

АНАЛИЗ ВОЗДЕЙСТВИЯ НЕКОТОРЫХ СОЛЕЙ ДОКСИЦИКЛИНА НА СТРУКТУРНОЕ СОСТОЯНИЕ ЭРИТРОЦИТОВ И ГЕМОГЛОБИНА ЧЕЛОВЕКА

А. И. Бабаскина¹, Е. С. Баева², В. Г. Артюхов¹

¹ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»,

²ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко

Поступила в редакцию 12.05.2021 г.

Аннотация. В статье рассматриваются вопросы влияния антибиотиков класса тетрациклины на клетки организма человека на примере модельных систем «антибиотик – эритроцит», «антибиотик – гемоглобин». Доксциклин и его соли – полусинтетические тетрациклины, активно используемые в терапии не только воспалительных, но и опухолевых процессов различной этиологии: недавние клинические испытания доксициклина уже показали положительный терапевтический эффект у онкологических больных. Особенности пространственной организации молекул антибиотика обуславливают определенные режимы его дозирования, взаимодействия с другими препаратами при использовании в комбинациях, а также ряд ограничений по его применению различными группами пациентов. В этой связи учет соотношения польза-риск представляется наиболее важным при выборе стратегии медикаментозной терапии. Знание особенностей физико-химического взаимодействия доксициклина с биологическими объектами различного уровня организации позволит учесть возможности возникновения нежелательных эффектов антибактериальной терапии для выстраивания оптимальной тактики лечения.

Методом сканирующей электронной микроскопии изучено влияние доксициклина гидрохлорида и доксициклина моногидрата в концентрации $8.3 \cdot 10^{-5}$ моль/л на структурно-функциональное состояние эритроцитов. Установлено, что исследованные антибиотики индуцируют глубокие морфологические изменения в мембранах красных клеток крови, снижение количества двояковогнутых дискоцитов (на 8.5% и 17.7% при модификации доксициклином гидрохлоридом и моногидратом соответственно) и увеличение доли обратимо и необратимо деформированных эритроцитов относительно контроля. Выявлено, что соли доксициклина оказывают действие на структуру преимущественно белковой компоненты оксигемоглобина *in vitro*. Степень структурных изменений гемопротеида определяется временем его взаимодействия с модификатором. Данные, полученные в настоящем исследовании, указывают на то, что влияние антибиотиков на структурно-функциональное состояние компонентов эритроцитарных клеток способно привести к нарушению важнейших функций красных клеток крови *in vivo*. В этой связи необходимы исследования возможных механизмов защиты эритроцитов от повреждающего действия антибиотиков, способов восстановления их мембранного аппарата в случае нарушения его целостности в присутствии солей доксициклина.

Ключевые слова: антибиотики, доксициклин, эритроциты, гемоглобин, цитоархитектоника

Тетрациклины составляют группу антибиотиков широкого спектра действия, основным эффектом которых является ингибирование синтеза белка путем связывания 30S-субъединицы рибосом бактериальных клеток [1, 2]. К данной группе лекарственных средств относятся, в том числе, полусинтетические производные – доксициклин (ДЦ) в форме гидрохлорида, гиклата и моногидрата [3, 4]. Соли доксициклина родственны по химическому строению, антимикробному спектру и механизму действия, поэтому активны в от-

ношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, микоплазм, гельминтов [5] (рис. 1).

Обладая высокой степенью липофильности, ДЦ распределяется во многих физиологических системах организма человека [6, 7, 8, 9]. Путем взаимодействия с его внутри- и внеклеточными компонентами антибиотик способен оказывать влияние на изменение их структурно-функционального состояния [7]. Неантибактериальные эффекты солей ДЦ, нашедшие широкое применение в клинической практике, привлекают всё большее внимание научного сообщества [10, 11, 12]. Выявленные типы воздействия ДЦ на

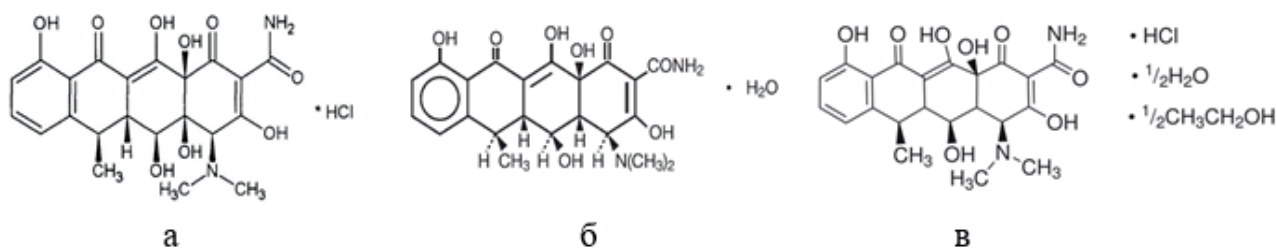


Рис. 1. Структурные формулы солей доксициклина: а – ДЦ гидрохлорид ($M = 480.9$ г/моль); б – ДЦ моногидрат ($M = 462.45$ г/моль); в – ДЦ гиклат ($M = 512.94$ г/моль) [4]

ядерный аппарат не только про-, но и эукариотических клеток в настоящее время позволяют рассматривать антибиотик в контексте потенциальных противоопухолевых препаратов, способных целенаправленно ингибировать трансляцию определенных групп белков [1]. Поэтому принципы взаимодействия ДЦ с белковыми молекулами различного уровня организации представляют значительный интерес. Знание особенностей такого взаимодействия необходимо для понимания сущности антибактериального препарата – «против» жизни или «за» неё?

В наших предыдущих исследованиях было показано, что ДЦ в форме гиклата индуцирует гетерогенные изменения эритроцитарных популяций, воздействуя на их полиморфизм, количество двояковогнутых дискоцитов, а также приводит к изменению буферных и конформационных свойств внутриэритроцитарного гемоглобина [6, 7, 13]. Нами показано, что ДЦ гиклат индуцирует необратимые изменения морфофункционального состояния более 50% эритроцитов, вызывая, в том числе, токсический эффект [6, 13]. Ввиду того, что соли ДЦ отличаются по профилю безопасности, представляло интерес оценить степень их влияния на красные клетки крови человека, выбранные нами в качестве модельной системы.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Методом сканирующей электронной микроскопии исследовали влияние солей ДЦ (гидрохлорида и моногидрата) в концентрации 8.3×10^{-5} моль/л на морфофункциональное состояние эритроцитов человека. Выделение суспензии эритроцитов из цельной крови донора осуществляли по стандартной методике [14]. Полученную суспензию красных клеток крови довели раствором 0.01 моль/л Na-фосфатного буфера (рН 7.4) до оптической плотности 0.8 (D_{495}). В качестве модифицирующего агента мы использовали ДЦ гидрохлорид и моногидрат в форме порошка. Полученные образцы эритроцитарных клеток инкубировали в

течение 1 часа с антибиотиком. Поверхностную цитоархитектонику нативных и модифицированных солями ДЦ эритроцитов крови доноров просматривали на сканирующем электронном микроскопе JEOL JSM – 6380 LU (Япония) при ускоряющем напряжении 20 кВ в лаборатории ЦКПНО ВГУ.

Структурно-функциональную характеристику мембран эритроцитов оценивали по классификации, предложенной Г.И. Козинцом и др. [15]. Для детального анализа характера изменения поверхностной архитектоники эритроцитов рассчитывали ряд индексов: Д% – процент дискоцитов, ОД% – процент обратимо деформированных эритроцитов, НД% – процент необратимо деформированных эритроцитов; ИТ – индекс трансформации: $ИТ = (ОД\% + НД\%) / Д\%$; ИОТ – индекс обратимой трансформации: $ИОТ = ОД\% / Д\%$; ИНОТ – индекс необратимой трансформации: $ИНОТ = НД\% / Д\%$.

Гемоглобин выделяли из крови доноров путем центрифугирования эритроцитарной суспензии в течение 10 мин при 9000 об/мин на микроцентрифуге MiniSpin. Надосадочная жидкость содержала в основном раствор оксигемоглобина, который разбавляли фосфатным буфером до требуемой концентрации [14]. Регистрацию электронных спектров поглощения растворов нативного и модифицированного солями ДЦ оксигемоглобина проводили на спектрофотометре Shimadzu UV – 2401 РС в диапазоне длин волн от 190 до 900 нм. Оптическую плотность (D) растворов гембелка регистрировали на протяжении всего исследуемого диапазона через 1 нм. Для автоматической регистрации спектров поглощения использовали кварцевые кюветы толщиной 10 мм [6].

Статистическая обработка результатов исследования осуществлялась с помощью прикладных пакетов Microsoft Excel. Достоверность отличий контрольных и экспериментальных результатов оценивали при помощи t-критерия Стьюдента. Различия сравниваемых показателей считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Согласно классификации эритроцитов, предложенной Г.И. Козинцом и соавторами (1977), в наших опытах контрольный образец содержал 95.2% дискоцитов, 3% обратимо деформированных клеток и 1.8% необратимо деформированных клеток, что соответствует нормальному соотношению красных кровяных клеток крови здорового человека [16, 17] (рис. 2). Исследование цитоархитектоники эритроцитов, модифицированных солями ДЦ, методом сканирующей электронной микроскопии показало снижение количества двояковогнутых дискоцитов (на 8.5% при модификации ДЦ гидрохлоридом и на 17.7% при модификации ДЦ моногидратом) и увеличение доли обратимо и необратимо деформированных эритроцитов относительно контроля (табл. 1).

Как следует из представленных данных, в присутствии солей ДЦ происходит повышение ИТ клеток, ИОТ и ИНОТ. При модификации ДЦ гидрохлоридом наблюдается увеличение числа обратимых форм на 4.1%, необратимых форм – на 4.4% (рис. 3). При модификации эритроцитов ДЦ моногидратом число обратимых форм эритроцитарных клеток увеличилось на 2.9%, необратимых форм – на 14.8% (рис. 3).

На полученных нами электронных микрофотографиях, представленных на рис. 4, можно наблюдать эхиноцитарную трансформацию эритроцитов, которая является одним из путей старения красных

кровяных клеток [18]. При модификации эритроцитов ДЦ моногидратом многие клетки претерпевали инвагинацию мембраны в зоне пеллора (рис. 4).

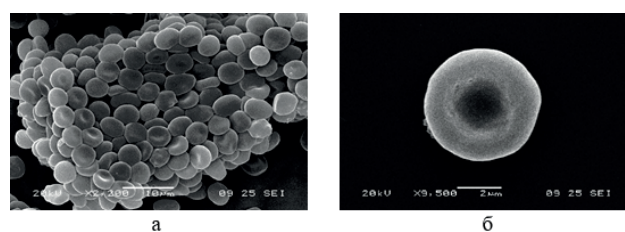


Рис. 2. Электронные микрофотографии эритроцитов контрольного образца: а) при увеличении $\times 2200$; б) при увеличении $\times 9500$

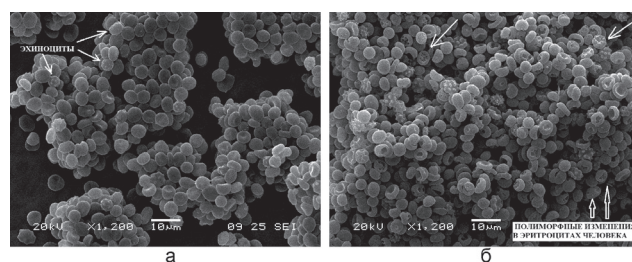


Рис. 3. Поверхностная архитектура эритроцитов, модифицированных: а) ДЦ моногидратом (8.3×10^{-5} моль/л); б) ДЦ гидрохлоридом (8.3×10^{-5} моль/л)

Окислительные процессы, вызванные, по всей вероятности, взаимодействием солей ДЦ с эритроцитами, приводят к преобладанию в крови трансформированных клеток. Подобные результаты были получены нами и при модификации эритроцитов

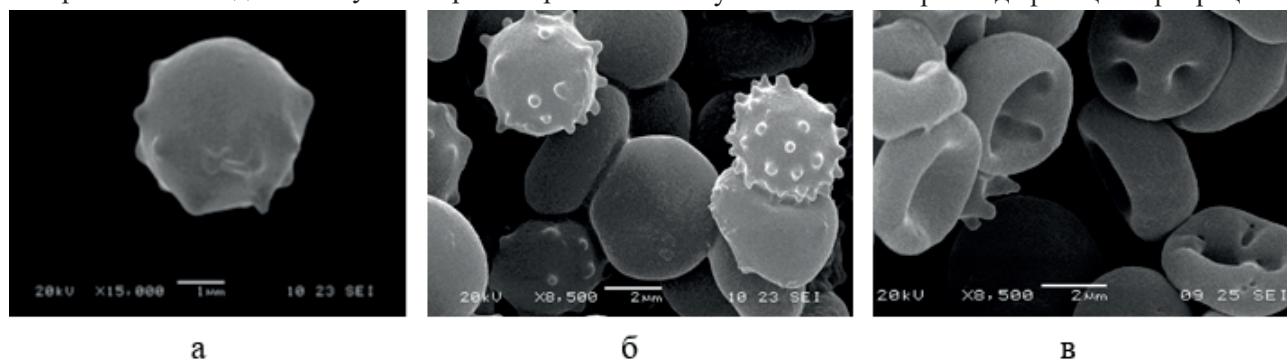


Рис. 4. Поверхностная архитектура эритроцитов, модифицированных солями доксициклина: а – сфероэхиноцит (увеличение 15000); б – эхиноциты (увеличение 8500); в - эритроцитарные клетки, модифицированные ДЦ моногидратом (увеличение 8500)

Таблица 1

Цитоархитектоника эритроцитов крови доноров, модифицированных солями доксициклина
(* - статистически достоверное отличие относительно контроля ($p \leq 0,05$))

Показатели	Контроль	ДЦ гидрохлорид	ДЦ моногидрат
Д, %	95.2±0.56	86.7±0.44*	77.5±0.61*
ОД, %	3±0.34	7.1±0.27*	5.9±0.42*
НД, %	1.8±0.25	6.2±0.24*	16.6±0.39*
ИТ	0.051±0.011	0.153±0.009*	0.29±0.013*
ИОТ	0.032±0.007	0.081±0.005*	0.076±0.009*
ИНОТ	0.019±0.008	0.072±0.004*	0.214±0.008*

ДЦ в форме гиклата [13]. Следовательно, соли ДЦ обладают сродством к компонентам эритроцитарных клеток, вызывая накопление в них структурных повреждений уже при часовой инкубации.

Форму диска эритроцит принимает в основном под влиянием работы калий-натриевого насоса, обеспечивающего компенсацию ионного баланса и снижение осмотического давления [19]. Изменение взаимодействия полипептидов между собой и другими компонентами мембраны может приводить к изменению свойств и формы эритроцитов. Угнетение метаболизма клетки вызывает повышение чувствительности эритроцитов к трансформирующим агентам, поэтому, по всей вероятности, стареющие эритроциты являются наиболее чувствительными к нагрузке антибиотиком. Сравнивая полученные данные, можно заключить, что ДЦ в форме моногидрата индуцировал большее количество структурных изменений эритроцитов.

Электронные спектры поглощения растворов HbO_2 нативного (контрольного) образца характеризовались наличием двух максимумов в ультрафиолетовой области (274 и 344 нм) и трех полос поглощения в видимой части спектра (414, 542 и 576 нм), что соответствует нормальным значениям [20].

Проведенный анализ спектральных характеристик водных растворов ДЦ гидрохлорида и ДЦ моногидрата позволил выявить наличие двух максимумов поглощения при 274 и 346 нм (рис. 5). Характерные полосы поглощения обусловлены наличием определенных хромофоров [5]. Максимум при 274 нм обусловлен π -электронами в составе фенольных групп; максимум при 346 нм – амидной группой, входящей в состав солей доксициклина. На основании проведенного спектрофотометрического анализа можно сделать вывод, что спектры поглощения водных растворов ДЦ гидрохлорида и ДЦ моногидрата практически идентичны.

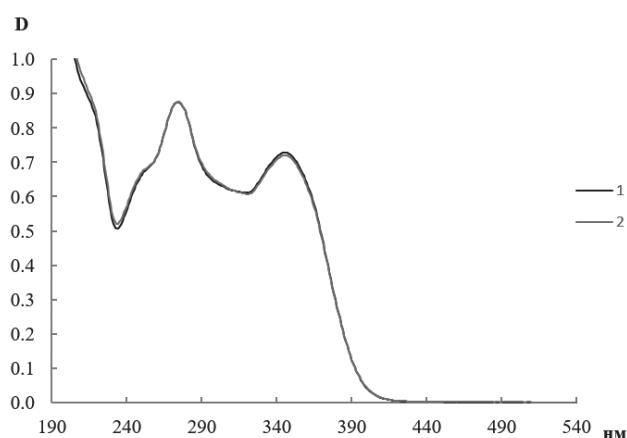


Рис. 5. Электронные спектры поглощения растворов солей доксициклина в концентрации 8.3×10^{-5} моль/л: 1 – ДЦ гидрохлорид; 2 – ДЦ моногидрат

Результаты исследования спектральных характеристик водных растворов оксигемоглобина человека, модифицированных солями ДЦ в течение разного времени (10, 20, 30 мин, 1 час, 2 часа, 1 сутки) в исследуемых концентрациях, представлены в таблицах 2, 3 и на рис. 6.

Анализ спектральных характеристик растворов оксигемоглобина человека, модифицированных ДЦ гидрохлоридом и ДЦ моногидратом, показал, что соли доксициклина индуцируют повышение оптической плотности растворов HbO_2 в белковой области спектра. Это свидетельствует о том, что антибиотики оказывают частичный денатурирующий эффект при взаимодействии с оксигемоглобином. Максимальное повышение оптической плотности зарегистрировано при инкубации гемоглобина с антибиотиками в течение 2 часов: при модификации ДЦ гидрохлоридом на 37.7% (274 нм) и на 41.6% (344 нм), при модификации ДЦ моногидратом на 40.2% (274 нм) и 43.7% (344 нм). Как следует из данных (рис. 6), через сутки взаимодействия антибиотиков с растворами гембелка происходит

Таблица 2

Оптическая плотность в максимумах поглощения растворов оксигемоглобина (контроль) в присутствии ДЦ гидрохлорида в разные периоды инкубации

Показатели	Контроль	10 мин	20 мин	30 мин	1 час	2 часа	1 сутки
λ_1	274	274	274	274	274	274	274
D_1	0.243	0.372	0.376	0.375	0.381	0.385	0.352
λ_2	344	344	344	344	344	344	344
D_2	0.185	0.291	0.291	0.289	0.293	0.293	0.281
λ_3	414	414	414	414	414	414	414
D_3	0.797	0.755	0.759	0.759	0.765	0.761	0.746
λ_4	542	542	542	542	542	542	542
D_4	0.089	0.084	0.088	0.092	0.092	0.092	0.088
λ_5	576	576	576	576	576	576	576
D_5	0.094	0.088	0.092	0.096	0.096	0.095	0.094

Оптическая плотность в максимумах поглощения растворов оксигемоглобина (контроль) в присутствии ДЦ моногидрата в разные периоды инкубации

Показатели	Контроль	10 мин	20 мин	30 мин	1 час	2 часа	1 сутки
λ_1	274	274	274	274	274	274	274
D_1	0.243	0.366	0.362	0.364	0.366	0.379	0.336
λ_2	344	344	344	344	344	344	344
D_2	0.185	0.284	0.28	0.281	0.282	0.288	0.271
λ_3	414	414	414	414	414	414	414
D_3	0.797	0.737	0.757	0.759	0.764	0.769	0.746
λ_4	542	542	542	542	542	542	542
D_4	0.089	0.086	0.088	0.09	0.093	0.095	0.087
λ_5	576	576	576	576	576	576	576
D_5	0.094	0.09	0.092	0.94	0.097	0.098	0.091

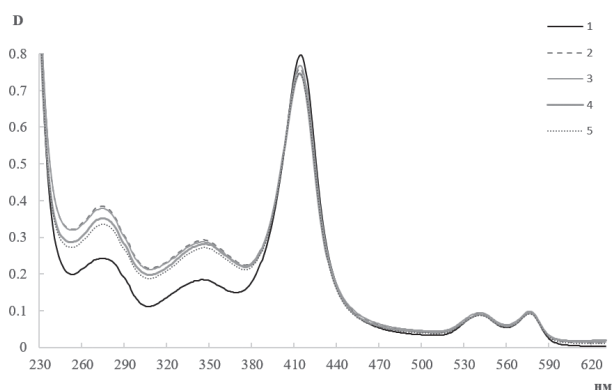


Рис. 6. Электронные спектры поглощения растворов оксигемоглобина человека, модифицированного ДЦ гидрохлоридом и ДЦ моногидратом в концентрации $8.3 \cdot 10^{-5}$ моль/л: 1 – нативный раствор HbO_2 , 2 – HbO_2 с ДЦ гидрохлоридом (инкубация 2 часа), 3 – HbO_2 с ДЦ моногидратом (инкубация 2 часа), 4 – HbO_2 с ДЦ гидрохлоридом (инкубация 1 сутки), 5 – HbO_2 с ДЦ моногидратом (инкубация 1 сутки)

снижение их оптической плотности, по-видимому, ввиду взаимодействия антибиотика с функциональными группами гемопротейда. Снижение оптической плотности растворов гемоглобина в области полосы Сорэ как при кратковременном, так и при длительном его взаимодействии с антибиотиками свидетельствует о химическом взаимодействии его функциональных групп с модификатором.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, соли доксициклина индуцируют изменение морфологических характеристик эритроцитов, соотношения их трансформационных форм, а также химически взаимодействуют с гемоглобином *in vitro*. Полученные нами данные указывают на то, что влияние антибиотиков на структурно-функциональное состояние компонентов эритроцитарных клеток способно приве-

сти к нарушению важнейших функций красных клеток крови *in vivo*. По этой причине необходимы исследования возможных механизмов защиты эритроцитов от повреждающего действия антибиотиков, способов восстановления их мембранного аппарата в случае нарушения его целостности в присутствии солей доксициклина.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Aronson A.L. // J. Am. Vet. Med. Assoc. 1980. Vol. 17, pp. 1061-1068.
2. Cunha B.A., Domenico P., Cunha C.B. // Clin. Microbiol. Infect. 2000. Vol. 6. No. 5, pp. 270-273.
3. Граник В.Г. Основы медицинской химии. Москва, Вузовская книга, 2001, 384 с.
4. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. Москва, Наука, 2004, 528 с.
5. Официальный сайт компании Сигма-Алдрич. Режим доступа: <https://www.sigmaaldrich.com> (дата обращения: 25.01.2021).
6. Баева Е.С. Дис. канд. биол. наук. Воронеж, 2013, 184 с.
7. Баева Е.С., Артюхов В.Г. Биофизические и клинико-диагностические основы морфофункциональной организации эритроцитов. Воронеж, Издательский дом ВГУ, 2020, 142 с.
8. Белозеров Е.С., Зимущко Е.И. Медикаментозные осложнения. Санкт-Петербург, Питер, 2001, 448 с.
9. Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Бизенкова М.Н. // Успехи современного естествознания. 2015. № 1-2. С. 328-331.
10. Ng H.Y., Oliver B.G., Burgess J.K., Krymskaya V.P., Black J.L., Moir L.M. // J Cell. Mol. Med. 2015. Vol 19. No. 11. pp. 2633-2646.
11. Zhao Y., Wang X., Li L., Li C. Can J Physiol Pharmacol. 2016. No. 94(5). pp. 526-33.
12. Pimenta S.P., Baldi B.G., Kairalla R.A., Carvalho C.R. J Bras Pneumol. 2013. No. 39(1). pp. 5-15.

13. Баева Е.С., Артюхов В.Г. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2014. Т. 157. № 3. С. 370-374.
14. Артюхов В.Г., Башарина О.В., Вашанов Г.А. Практикум по биофизике. Воронеж, Издательский дом ВГУ, 2016, 313 с.
15. Козинец Г.И., Симоварт Ю.А. Поверхностная архитектура периферической крови в норме и при некоторых заболеваниях системы крови. Таллин, 1984, 114 с.
16. Быков В.Л. Цитология и общая гистология. Санкт-Петербург, Sotis, 2002, 509 с.
17. Кузнецов С.Л., Мушкамбаров Н.Н. Гистология, цитология и эмбриология. Москва, ООО "Медицинское информационное агентство", 2007, 600 с.
18. Вохминцев А.П., Сайфиев Р.Р., Фролова О.В. // Современные наукоемкие технологии. 2004. № 3. С. 54-55.
19. Атауллаханов Ф., Витвицкий В.М., Кияткин А.Б., Пичугин А.В. // Биофизика. 1993. Т. 38. № 5. С. 809-821.
20. Артюхов В.Г., Путинцева О.В., Калаева Е.А., Савостин В.С. Гемоглобин человека в условиях воздействия различных физико-химических агентов. Воронеж, Издат.-полиграф. центр Воронеж. гос. ун-та, 2013, 364 с.

Воронежский государственный университет
**Бабаскина А. И., магистрант кафедры биофизики и биотехнологии*
E-mail: babaskina.anya@mail.ru

Voronezh State University
**Babaskina A. I., student, Department of Biophysics and Biotechnology*
E-mail: babaskina.anya@mail.ru

Артюхов В. Г., доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой биофизики и биотехнологии
E-mail: artyukhov@bio.vsu.ru

Artyukhov V. G., PhD, DSci, Full Professor, Head of the Department of Biophysics and Biotechnology
E-mail: Artyukhov@bio.vsu.ru

Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко
Баева Е. С., доцент кафедры нормальной физиологии, кандидат биологических наук
E-mail: galaxy1985@mail.ru

N.N. Burdenko State Medical University
Bayeva Y. S., PhD, Associate Professor, Department of Normal Physiology
E-mail: galaxy1985@mail.ru

ANALYSIS OF THE EFFECT OF CERTAIN DOXYCYCLINE SALTS ON THE STRUCTURAL STATE OF HUMAN ERYTHROCYTES AND HEMOGLOBIN

A. I. Babaskina¹, Ye. S. Bayeva², V. G. Artyukhov¹

¹*Voronezh State University*

²*Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko*

Abstract. The article deals with the influence of the tetracycline antibiotics on the human body cells on the example of the model systems "antibiotic-erythrocyte", "antibiotic-hemoglobin". Doxycycline and its salts are semi-synthetic tetracyclines that are actively used in the treatment of not only inflammatory, but also tumor processes of various etiologies: recent clinical trials of doxycycline have already shown a positive therapeutic effect in cancer patients. The peculiarities of the spatial organization of the antibiotic molecules determine certain modes of its dosage, interaction with other drugs when used in combinations, as well as a number of restrictions on its use by different groups of patients. In this regard, taking into account the benefit-risk ratio is the most important when choosing a strategy for drug therapy. Knowledge of the features of the physical and chemical interaction of doxycycline with biological objects of various levels of organization will allow us to take into account the possibility of undesirable effects of antibacterial therapy for building optimal treatment tactics.

The effect of doxycycline hydrochloride and doxycycline monohydrate at a concentration of $8.3 \cdot 10^{-5}$ mol/l on the structural and functional state of red blood cells was researched by scanning electron microscopy. It was found that the antibiotics studied induce deep morphological changes in the membranes of red blood cells, a decrease in the number of biconcave discocytes (by 8.5% and 17.7% when modified with doxycycline hydrochloride and monohydrate, respectively) and an increase in the proportion of reversibly and irreversibly deformed red blood cells relative to the control. It was established that doxycycline salts affect the structure of the predominantly protein component of oxyhemoglobin in vitro. The depth of conformational changes in the hemoprotein is determined by the time of its interaction with the modifier. The data obtained in this study indicate that the effect of antibiotics on the structural and functional state of the components of red blood cells can lead to a violation of the most important functions of red blood cells in vivo. In this regard, it is necessary to study the possible mechanisms of red blood cells protection from the damaging effects of antibiotics, ways to restore their membrane apparatus in the event of a violation of its integrity in the presence of doxycycline salts.

Keywords: antibiotics, doxycycline, red blood cells, hemoglobin, cytoarchitectonics

REFERENCES

1. Aronson A.L. J. Am. Vet. Med. Assoc, 1980, Vol. 17, pp. 1061-1068.
2. Cunha B.A., Domenico P., Cunha C.B. Clin. Microbiol. Infect, 2000, Vol. 6, No. 5, pp. 270-273. DOI: 10.1046/j.1469-0691.2000.00058.
3. Granik V.G. Osnovy medicinskoj himii. Moskva, Vuzovskaja kniga, 2001, 384 p.
4. Egorov N.S. Osnovy uchenija ob antibiotikah. Moskva, Nauka, 2004, 528 p.
5. Oficial'nyj sajt kompanii Sigma-Aldrich. Available at: <https://www.sigmaaldrich.com> (accessed 25 January 2021).
6. Baeva E.S. Dis. kand. biol. nauk. Voronezh, 2013, 184 p.
7. Baeva E.S., Artyukhov V.G. Biofizicheskie i kliniko-diagnosticheskie osnovy morfofunkcional'noj organizacii jeritocitov. Voronezh, Izdatel'skij dom VGU, 2020, 142 p.
8. Belozеров E.S., Zimushko E.I. Medikamento-znye oslozhnenija. Sankt-Peterburg, Piter, 2001, 448 p.
9. Chesnokova N.P., Ponukalina E.V., Bizenkova M.N. // Uspehi sovremennogo estestvoznanija, 2015, No. 1-2, pp. 328-331.
10. Ng H.Y., Oliver B.G., Burgess J.K., Krymskaya V.P., Black J.L., Moir L.M. // J Cell. Mol. Med, 2015, Vol 19, No. 11, pp. 2633-2646. DOI: doi: 10.1111/jcmm.12593.
11. Zhao Y., Wang X., Li L., Li C. Can J Physiol Pharmacol, 2016, No. 94(5), pp. 526-33. DOI: 10.1139/cjpp-2015-0481.
12. Pimenta S.P., Baldi B.G., Kairalla R.A., Carvalho C.R. J Bras Pneumol, 2013, No. 39(1), pp. 5-15. DOI: 10.1590/s1806-37132013000100002.
13. Baeva E.S., Artjuhov V.G. Bjulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny, 2014, Vol. 157, No. 3, pp. 370-374.
14. Artyukhov V.G., Basharina O.V., Vashanov G.A. Praktikum po biofizike. Voronezh, Izdatel'skij dom VGU, 2016, 313 p.
15. Kozinec G.I., Simovart Ju.A. Poverhnostnaja arhitektonika perifericheskoj krovi v norme i pri nekotoryh zabolevanijah sistemy krovi. Tallin, 1984, 114 p.
16. Bykov V.L. Citologija i obshhaja gistologija. Sankt-Peterburg, Sotis, 2002, 509 p.
17. Kuznecov S.L., Mushkambarov N.N. Gistologija, citologija i jembriologija. Moskva, OOO "Medicinskoe informacionnoe agentstvo", 2007, 600 p.
18. Vohmincev A.P., Sajfiev R.R., Frolova O.V. Sovremennye naukoemkie tehnologii, 2004, No. 3, pp. 54-55.
19. Ataulhanov F., Vitvickij V.M., Kijatkin A.B., Pichugin A.V. Biofizika, 1993, Vol. 38, No. 5, pp. 809-821.
20. Artyukhov V.G., Putinceva O.V., Kalaeva E.A., Savostin V.S. Gemoglobin cheloveka v uslovi-jah vozdejstvija razlichnyh fiziko-himicheskikh agentov. Voronezh, Izdat.-poligraf. centr Voronezh. gos. un-ta, 2013, 364 p.